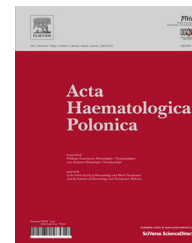




Contents lists available at ScienceDirect

## Acta Haematologica Polonica

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/achaem](http://www.elsevier.com/locate/achaem)

### Praca poglądowa/Review

# Rekomendacje Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce (KMLP) dotyczące wykonywania biopsji aspiracyjnej i oceny cytologicznej szpiku kostnego



## College of Laboratory Medicine in Poland: Recommendations for Performing Aspiration and Cytological Assessment of Bone Marrow

Krzysztof Lewandowski<sup>1,\*</sup>, Tomasz Szczepański<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Terapii Monitorowanej i Farmakogenetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Kierownik: prof. dr hab. n. farm. Mirosława Szczepańska-Konkel, Gdańsk, Polska

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii Dziecięcej w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Kierownik: prof. dr hab. med. Tomasz Szczepański, Zabrze, Polska

#### INFORMACJE O ARTYKULE

Historia artykułu:

Otrzymano: 08.09.2014

Zaakceptowano: 13.02.2015

Dostępne online: 18.02.2015

Słowa kluczowe:

- biopsja aspiracyjna szpiku
- ocena rozmazu szpiku
- rekomendacje KMLP

Keywords:

- Aspiration of bone marrow
- Bone marrow assessment
- KMLP recommendations

#### A B S T R A C T

Cytological assessment of bone marrow remains one of the most important tests in hematology for many decades. Quite recently, in 2008, International Council for Standardization in Hematology (ICSH) published their recommendations concerning techniques of bone marrow aspiration, smear preparation and microscopic assessment rules. Based on these recommendations, Working Group for Hematology of the College of Laboratory Medicine in Poland proposed national guidelines, taking into account the specificity of Polish health care system. This article contains the rules, which should be followed during bone marrow aspirate examination, with the aim to improve the quality of the analysis. The technique of aspiration was presented in detail. The list of data, which should be transferred together with the sample to the laboratory, the methods of preparing and staining of smears, rules for microscopic assessment and preparing of final report are also included.

© 2015 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

\* Autor do korespondencji: Zakład Terapii Monitorowanej i Farmakogenetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 7, 80-952 Gdańsk, Polska. Tel.: +48 58 349 27 88; fax: +48 58 349 22 33.

Adres email: [klewandowski@gumed.edu.pl](mailto:klewandowski@gumed.edu.pl) (K. Lewandowski).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2015.02.002>

0001-5814/© 2015 Polskie Towarzystwo Hematologów i Transfuzjologów, Instytut Hematologii i Transfuzjologii. Published by Elsevier Sp. z o.o. All rights reserved.

## Wstęp

Biopsja aspiracyjna szpiku należy do ścisłego zestawu badań wykonywanych w diagnostyce chorób układu krwiotwórczego. Choć wykonywana jest ona od prawie 100 lat, dopiero niedawno, bo w 2008 roku, *International Council for Standardization in Hematology* (ICSH) określiła szczegółowe wytyczne dotyczące pobierania materiału do badania, zasad jego oceny i redagowania raportu [1]. Kilkuletnie doświadczenia zebrane w trakcie prowadzenia ogólnopolskiego Programu Zewnętrznej Oceny Jakości w Zakresie Mikroskopowego Badania Rozmazu Krwi Obwodowej i Szpiku Kostnego (EQAhem) pozwoliły na wnikliwe i precyzyjne ustalenie, w jaki sposób dokonywana jest w Polsce ocena szpiku. Na podstawie tych doświadczeń Grupa Robocza ds. Hematologii Kolegium Medycyny Laboratoryjnej w Polsce opracowała zalecenia dotyczące zasad pobierania i oceny szpiku, uwzględniające specyfikę funkcjonowania służby zdrowia w Polsce. Mamy nadzieję, że zasady te przyczynią się do większego ujednoczenia sposobu oceny szpiku, służąc tym samym poprawie jakości tej dziedziny diagnostyki.

## Wskazania do przeprowadzenia badania szpiku

Wytyczne ICSH zawierają wykaz wskazań do przeprowadzenia badania szpiku. Ich charakter jest bardzo ogólny. Wraz z rozwojem medycyny zmieniają się zalecenia diagnostyczne. Badanie szpiku, do niedawna bezwzględnie wymagane do rozpoznania określonej jednostki chorobowej, według aktualnej wiedzy może już nie stanowić kryterium diagnostycznego. I przeciwnie, do zdiagnozowania choroby, przy której szpik nie jest rutynowo badany, może zająć potrzeba jego oceny. O potrzebie badania szpiku, często uzupełnionego o ocenę histologiczną (trepanobiopsja), decyduje lekarz leczący lub konsultant, kierując się okresowo aktualizowanymi standardami diagnostycznymi odnoszącymi się do konkretnych chorób/grup chorób, a także

indywidualnymi okolicznościami klinicznymi. Z tego względu w niniejszych zaleceniach zagadnienie potencjalnych wskazań do wykonania badania szpiku nie będzie omawiane.

## Technika pobierania szpiku do badania cytologicznego

### Przygotowanie pacjenta

Po podjęciu decyzji o przeprowadzeniu badania szpiku należy w przystępny sposób wyjaśnić pacjentowi (i/lub jego opiekunom, w przypadku dzieci) na czym będzie polegało badanie, a następnie należy uzyskać od niego pisemną zgodę na wykonanie tego zabiegu. U dzieci pobranie szpiku jest najczęściej wykonywane w krótkotrwałym znieczuleniu ogólnym, na które wymagana jest zgoda rodziców/opiekunów dziecka. Szczególnie istotne jest zebranie od pacjenta informacji dotyczących:

- ewentualnych występujących w przeszłości reakcji nadwrażliwości (w tym na preparaty miejscowo znieczulające), a u dzieci – o wcześniejszych znieczuleniach ogólnych;
- obciążenia szką krwotoczną,
- faktu prowadzenia terapii przeciwwkrzepliwnej.

Lekarz pobierający szpik do badania powinien znać aktualny poziom płytek krwi. Biopsja aspiracyjna nie jest przeciwwskazana nawet przy głębokiej małopłytkowości, jak również przy obecności objawów szki krwotocznej. Jeśli jednak w trakcie zabiegu planowane jest jednoczesne pobranie trepanobiopsji, to przy głębokiej małopłytkowości zaleca się uprzednie przetoczenie koncentratu krwinek płytkowych, a w razie występowania osoczowych zaburzeń krzepnięcia – przynajmniej częściowe ich skorygowanie. Ewentualne krwawienia z miejsca pobrania najczęściej ustępują samoistnie. Niekiedy konieczne jest kilkuminutowe uciśnięcie miejsca pobrania i oziębienie okolicy za pomocą worka z lodem.

Prawidłowy szpik pochodzący z różnych okolic anatomicznych nie różni się zasadniczo składem. Potencjalne miejsca pobrania szpiku do badania podano w tabeli I [2].

**Tabela I – Miejsca pobrania szpiku kostnego do badania**  
**Table I – Places of bone marrow collection**

Miejsce anatomiczne	Biopsja aspiracyjna	Trepanobiopsja	Uwagi
Rękojeść mostka (linia pośrodkowa, na wysokości II przestrzeni międzyżebrowej)	TAK	NIE	zalecane przy nieudanej aspiracji z kości biodrowej, zalecane u pacjentów po radioterapii miednicy ryzyko przebicia osierdzia, szczególna ostrożność wymagana u pacjentów z osteoporozą/osteolizą, nie zaleca się u małych dzieci
Górny, tylny kolec biodrowy	TAK	TAK	zalecane u starszych dzieci i dorosłych
Górny, przedni kolec biodrowy	TAK	TAK	preferowane u pacjentów niemogących położyć się na wznak oraz u pacjentów bardzo otyłych
Kość piszczelowa (powierzchnia przyśrodkowa)	TAK	NIE	głównie u noworodków, możliwa do wykonania do 18. miesiąca życia
Żebra	TAK	NIE	nie jest wykonywane
Wyrostki kolczyste kręgow	TAK	NIE	nie jest wykonywane

### Sposób pobierania szpiku do badania

Zabieg pobrania szpiku wykonuje się z zachowaniem zasad aseptyki. Po znieczuleniu nasiękowym tkanek podskórnych oraz okostnej w miejscu wybranym do nakłucia, odpowiednią do danej lokalizacji igłą do biopsji wprowadza się w kość półobrotowym ruchem. Moment wejścia igłą do jamy szpikowej wyczuwany jest przez osobę pobierającą jako nagłe zmniejszenie oporu penetrowanej tkanki kostnej. Po wprowadzeniu igły i usunięciu z niej mandryna, należy w jego miejsce przyłączyć strzykawkę o pojemności 10 ml lub lepiej 20 ml i pociągnąć za tłok, przytrzymując pozostałą część strzykawki w kierunku przeciwnym, co powoduje powstanie w strzykawce podciśnienia, a w następstwie aspirację szpiku. Moment aspiracji jest odczuwany przez pacjenta jako dość intensywny, ssący ból, który dowodzi obecności igły w jamie szpikowej [3].

### Objętość pobieranego szpiku

Objętość pobranego aspiratu winna wahać się w zakresie 1,0–1,5 ml, o ile ma on zostać wykorzystany jedynie do badania cytologicznego. Większa objętość pobranego aspiratu zawierać będzie większą ilość krwi szpikowej, co jednak nie ma zasadniczego znaczenia, o ile materiał zawiera grudki i preparaty wykonane zostaną techniką rozgniatania grudek. Skład komórkowy samych grudek szpikowych nie zależy od objętości materiału, w której grudki te są zawarte. Z kolei większa objętość aspiratu niekorzystnie wpływa na jakość preparatów przygotowywanych klasyczną techniką (tj. rozmazywanych krawędzią drugiego szkiełka podstawowego). W przypadku potrzeby pobrania większej objętości szpiku w celu wykonania innych badań należy aspirować treść porcjami, pamiętając, aby pierwsza porcja została przekazana do badania cytologicznego, a z kolejno pobieranych porcji wykonane były badania immunofenotypowe i cytogenetyczne [1]. Badanie immunofenotypowe wykonane może być również z pozostałej po wykonaniu rozmazów cytologicznych pierwszej próbki szpiku.

### Antykoagulacja aspiratu szpiku

Przeważnie nie ma konieczności wykonywania rozmazów szpiku z materiału natywnego. Zaleca się natomiast, aby aspirat szpiku do badania cytologicznego pobrany do strzykawki, jak najszybciej został przeniesiony do próbki zawierającej wersenian dwupotasowy ( $K_2$ -EDTA), którego docelowe stężenie winno wynieść  $1,50 \pm 0,25$  mg/ml aspiratu. Najlepiej użyć w tym celu próbki o małej objętości, tzw. pediatrycznej [4]. Po dodaniu aspiratu należy go bezwzględnie starannie i delikatnie wymieszać z antykoagulantem. W części ośrodków utrzymywany jest zwyczaj „przyłożkowego” wykonywania (w gabinecie zabiegowym) przez personel laboratorium rozmazów ze szpiku natywnego. Postępowanie takie miało trzy cele: 1) potwierdzenie obecności grudek szpikowych w pobranym materiale, co dowodzi prawidłowego pobrania, 2) uniknięcie niekorzystnego wpływu antykoagulantu na pobrany szpik oraz 3) możliwość wykonania rozmazu z minimalnej ilości materiału, w przypadku problemów z pobraniem szpiku. Należy przyjąć, że

jedynie ostatni z wymienionych celów może być istotny. Krótki, kilku- do kilkunastominutowy kontakt szpiku z antykoagulantem powszechnie stosowanym w hematologii nie powoduje żadnych istotnych zmian morfologicznych w pobranym materiale, o ile zachowana jest właściwa proporcja objętości szpiku do ilości antykoagulantu. Ponadto, nawet przy obecności pojedynczych grudek, nie ma niekiedy możliwości ich dostrzeżenia na szkiełku zegarkowym, do którego w tym celu wylewany jest pobrany szpik. Brak widocznych grudek może być powodem podjęcia decyzji o wykonaniu kolejnej aspiracji, która przy dokładniejszej ocenie aspiratu byłaby zbędna. Wreszcie, natywny materiał w krótkim czasie skrzepnie, nie jest zatem możliwe wykonanie preparatów bardziej pracochłonnymi technikami, a jakość szybko wykonywanych rozmazów bywa słaba. Należy również uwzględnić fakt, że komórkowość szpiku bardzo szybko zmniejsza się w miarę aspiracji. Najbardziej wartościowa (zawierająca największą liczbę komórek i najbardziej liczne grudki) jest objętość 0,5–1,0 ml szpiku, zaaspirowana jako pierwsza. Dlatego tę objętość należy jak najlepiej wykorzystać, a nawet zabezpieczyć do wykonania innych badań.

### Opracowywanie aspiratu szpiku

#### Wykonanie preparatów z aspiratu szpiku

W celu przygotowania preparatów zaleca się, aby pobrany do próbki z antykoagulantem szpik wylać na mikroskopowe szkiełko podstawowe, a następnie przechylając je, zlać treść szpikową z powrotem do tej samej próbki. Na szkiełku powinny pozostać widoczne grudki szpikowe. Jeśli ich nie ma, należy ponownie wylać szpik na szkiełko i przy silnym oświetleniu (najlepiej od dołu), odciągnąć za pomocą pipety krew szpikową, unikając wciągania grudek. Postępowanie to niejednokrotnie pozwala na uzyskanie grudek szpikowych z materiału, który mógł wydawać się bezgrudkowy. Z osadzonych na szkiełku grudek szpikowych wykonuje się preparaty, których wygląd przedstawiono na [rycinie 1](#), stosując metody:

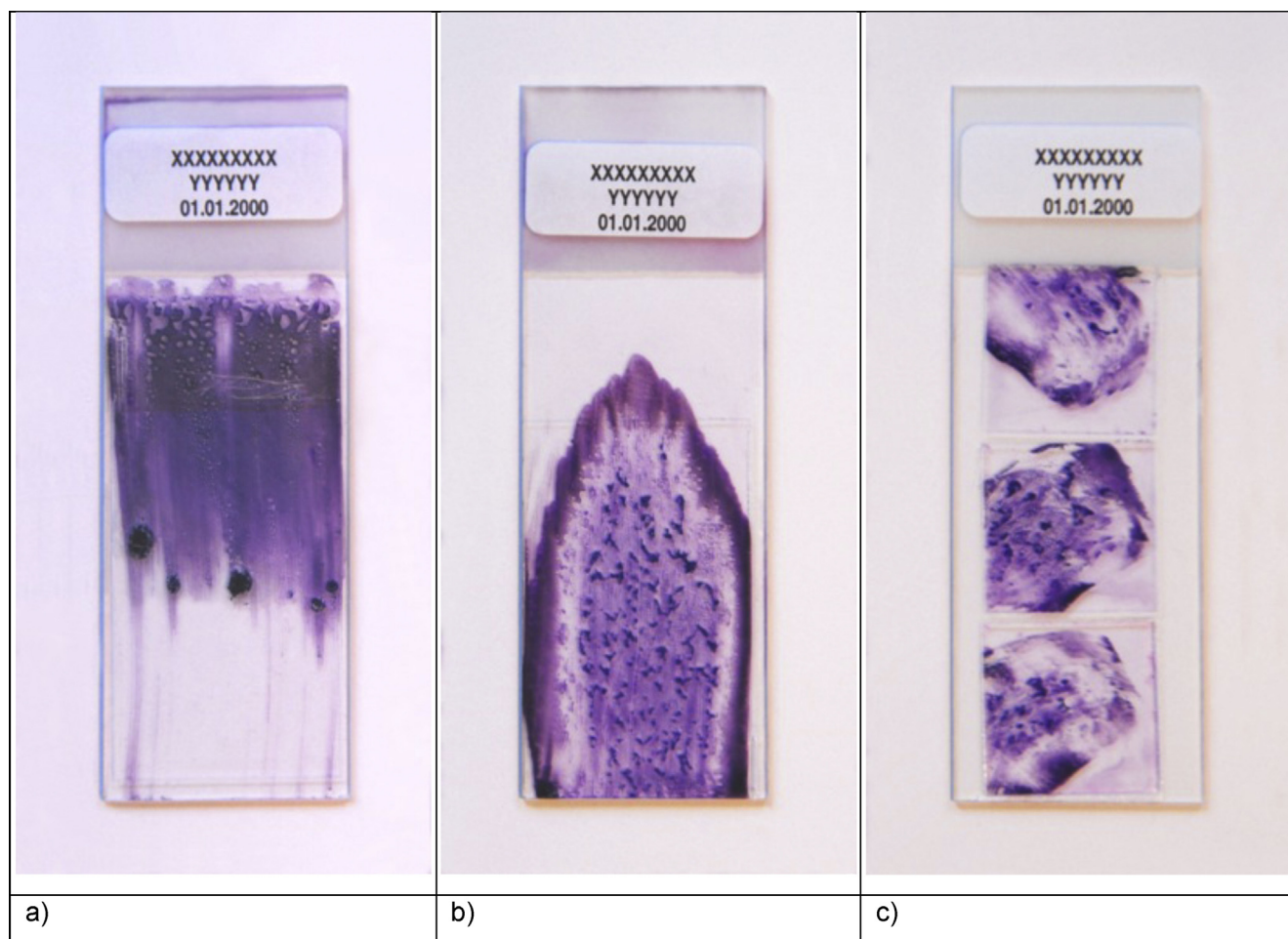
- „klasyczną”, przypominającą stosowaną przy wykonywaniu rozmazu krwi obwodowej; krótkim brzegiem drugiego szkiełka podstawowego zgarniane są grudki wraz z pewną ilością krwi szpikowej i materiał ten jest następnie rozmazywany na kolejnym szkiełku podstawowym ([Ryc. 1a](#));
- rozgniatania, w której niewielka ilość grudek rozgniatana jest pomiędzy dwoma szkiełkami podstawowymi ([Ryc. 1b](#)) lub dwoma szkiełkami nakrywkowymi ([Ryc. 1c](#)).

Do wyizolowywania grudek nie zaleca się stosowania szalek Petriego, ponieważ z naczyń tych trudno jest pobierać grudki szpikowe do dalszego rozmazywania.

Jeśli, pomimo odciągnięcia krwi, nie udaje się uwidocznić grudek, pobraną treść uznaje się za bezgrudkową i możliwe jest wykonanie preparatów wyłącznie metodą „klasyczną”.

#### Liczba wykonywanych preparatów:

W celu przeprowadzenia oceny cytologicznej (i ew. cytochemicznej) u pacjentów, u których badanie jest wykonywane po



**Ryc. 1 – Prawidłowo wykonane preparaty szpiku trzema metodami: a) metodą „klasyczną”, b) metodą rozgnięcia grudek na szkiełku podstawowym, c) metodą rozgnięcia grudek na szkiełku nakrywkowym**

**Fig. 1 – Properly done three methods marrow preparations: a) “classic”, b) crushing of the spicules on glass slides, c) crushing of the spicules on coverslip**

raz pierwszy, wymagane jest wykonanie co najmniej 6 preparatów metodą klasyczną oraz preparatów z rozgniecionych grudek (3 na szkiełkach podstawowych lub co najmniej 5 preparatów na szkiełkach nakrywkowych). Ilość ta zapewnia możliwość wykonania barwienia pannoptycznego oraz kompletu barwień cytochemicznych, jeśli takie okażą się potrzebne, przy zachowaniu preparatów rezerwowych.

U pacjentów już zdiagnozowanych, u których szpik badany jest w celu np. oceny efektów leczenia, za wystarczające uważa się przygotowanie 2 preparatów metodą „klasyczną” oraz 2 metodą rozgnięcia grudek.

Liczba preparatów, które należy wykonać, może być większa, jeśli planowane ma być przeprowadzenie na nich dodatkowych analiz, np. techniką FISH. Pozostałe niezabarwione preparaty szpiku można zabezpieczyć, owijając je szczelnie w folię aluminiową i przechowując w lodówce lub zamrażarce.

#### **Biopsja aspiracyjna a trepanobiopsja**

Badanie histopatologiczne szpiku (trepanobiopsja) wykonywane jest najczęściej w trakcie tego samego zabiegu,

w czasie którego pobierany jest aspirat szpiku. Należy unikać pobierania obu rodzajów materiału przy użyciu tylko jednej igły (trepanobiopsyjnej). Ma ona znacznie większą średnicę, co powoduje aspirację większej objętości próbki, a tym samym sprzyja obecności domieszki krwi. Zjawisko to nie ma większego wpływu na obraz preparatów przygotowanych technikami rozgnięcia grudek, jednak może być przyczyną znacznej odmienności obrazu preparatów wykonywanych dwoma rodzajami technik. O ile pobranie obu rodzajów materiału można dokonać przez jedno nakłucie skóry, o tyle igła do aspiracji musi być wprowadzona do kości w inne miejsce niż to, z którego pobrano trepanobiopsję. Badanie aspiracyjne, jako mniej urazogenne, należy wykonać jako pierwsze, a trepanobiopsję – w dalszej kolejności.

#### **Barwienie preparatów**

Wysuszone preparaty są następnie barwione barwieniem pannoptycznym (np. Maya, Grünwalda i Giemsy, Wrighta i Giemsy czy Romanowsky'ego) [5–7]. Wybarwić należy co najmniej 2 preparaty wykonane techniką „klasyczną” oraz

co najmniej 1 preparat z rozgniecionymi grudkami na szkiełku podstawowym lub co najmniej 3 preparaty z grudkami na szkiełkach nakrywkowych. ICSH zaleca, aby każda biopsja aspiracyjna wykonywana po raz pierwszy u pacjenta uzupełniona była o ocenę rezerw żelaza w barwieniu metodą Perlsa [1]. Wydaje się jednak, że barwienie Perlsa winno być wykonywane w sposób rutynowy przede wszystkim w diagnostyce niedokrwistości oraz do oceny pozahemowych rezerw żelaza. Pozostałe wskazania do wykonania tego barwienia mają charakter względny.

Ze względu na konieczność długotrwałego archiwizowania preparatów szpiku, wskazane jest ich zamykanie szkiełkami nakrywkowymi z użyciem syntetycznych środowisk konserwujących. Wszystkie gotowe preparaty należy w jednoznaczny i czytelny sposób opisać imieniem, nazwiskiem oraz datą pobrania materiału, ew. w inny sposób przyjęty w danym ośrodku.

### Ocena mikroskopowa preparatów szpiku

Wraz z preparatami szpiku osoba dokonująca ich oceny mikroskopowej powinna otrzymać skierowanie, wypełnione i podpisane przez lekarza zlecającego badanie szpiku, zawierające jak największą ilość danych klinicznych mogących mieć istotny wpływ na obraz szpiku. Dane, które powinno zawierać skierowanie na badanie szpiku, to m.in.:

- podstawowe dane identyfikacyjne i demograficzne pacjenta,
- jasno sprecyzowany cel badania,
- rozpoznanie kliniczne lub jego podejrzenie,
- zgłaszane objawy podmiotowe,
- odchylenia w badaniu fizykalnym (ze szczególnym uwzględnieniem powiększenia węzłów chłonnych, wątroby i śledziony oraz obecności skazy krwotocznej),
- aktualnie przyjmowane leki i ew. rodzaj i termin wcześniej prowadzonej terapii (np. jeśli oceniana ma być remisja choroby szpiku),
- ilościowe parametry morfologii krwi wraz z retikulocytozą (o ile nie jest dołączony wynik badania morfologicznego),
- zmiany w zakresie innych istotnych parametrów laboratoryjnych (biochemicznych, białkowych, gospodarki żelazem, stężenia witamin, aktywności enzymów – np. LDH, stężenie CRP),
- datę i godzinę pobrania materiału.

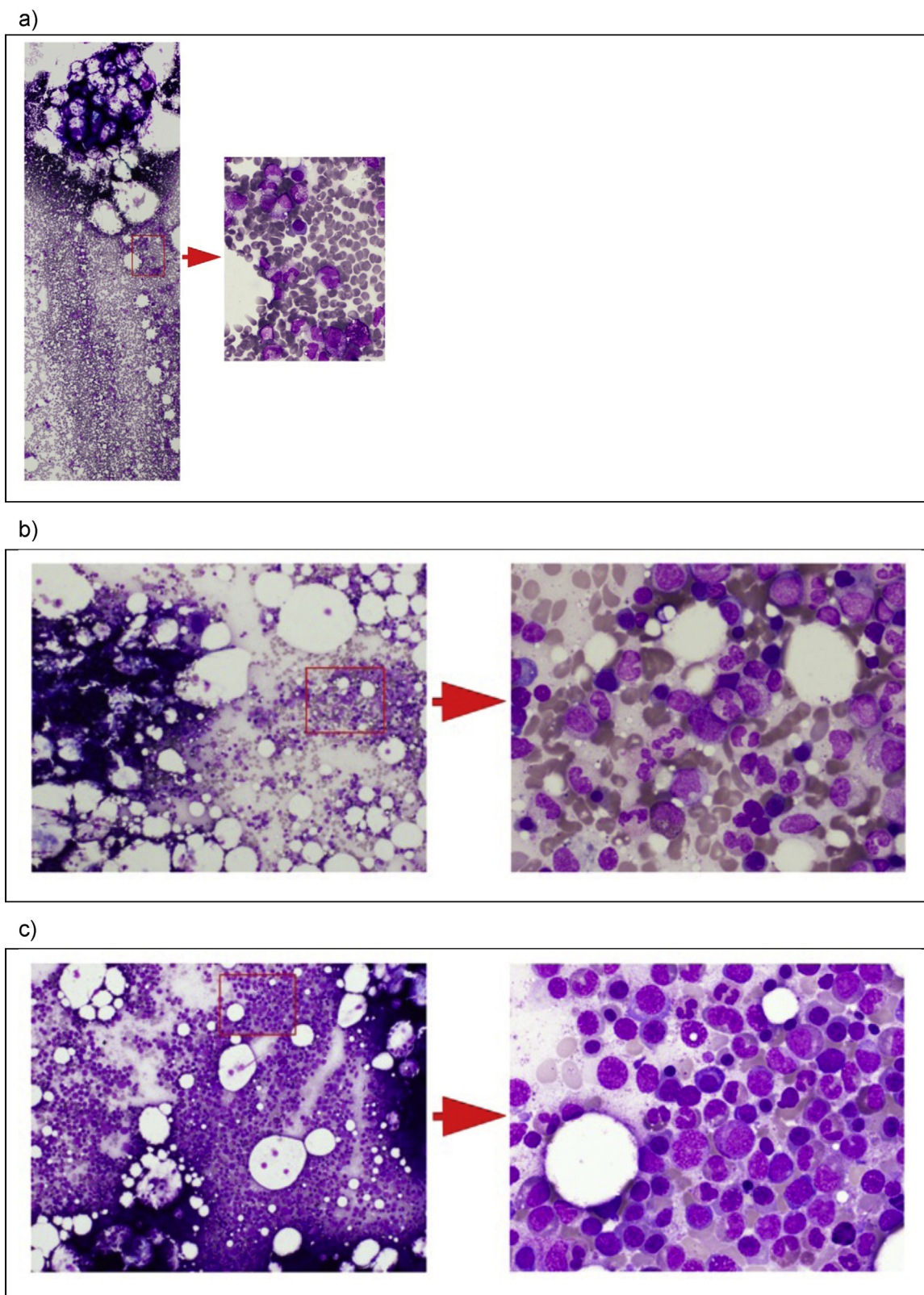
Do skierowania dołączyć należy aktualny wynik badania morfologicznego krwi (wykonanego najlepiej w dniu pobrania szpiku, ew. w ciągu poprzedzających 48 godzin) oraz wybarwiony rozmaz krwi. Dopiero po analizie danych zawartych na skierowaniu, wyniku badania ilościowego krwi oraz po ocenie mikroskopowej rozmazu krwi należy przystąpić do oceny szpiku.

Szpik należy ocenić makroskopowo, stwierdzając obecność lub brak widocznych grudek. Struktury te mogą być niekiedy na tyle drobne, że nie są widoczne „nieuzbrojonym” okiem, dlatego definitywnie brak grudek szpikowych stwierdzić można po ocenie końców (tzw. ogona) preparatu pod małym powiększeniem mikroskopu.

Ocenę mikroskopową rozpoczyna się od małego powiększenia (100×), pod którym określa się:

- ogólną komórkowość szpiku, przy zastosowaniu takich określeń, jak: szpik aplastyczny (tj. zasadniczo pozbawiony komórek poszczególnych szeregów szpikowych), ubogokomórkowy, o komórkowości średniej, bogatej lub wzmoczonej; ocena komórkowości aspiratu ma wyłączny charakter orientacyjny, a obiektywne ustalenie komórkowości szpiku możliwe jest jedynie w badaniu trepanobiopsyjnym,
- liczbę megakariocytów: liczby komórek tego szeregu nie należy wyrażać w postaci wartości procentowych a jedynie za pomocą określeń: brak, pojedyncze, dość liczne, liczne i bardzo liczne; ze względu na znaczne rozmiary, większość megakariocytów pozostaje wewnątrz grudek szpikowych, dlatego za bardziej miarodajną uważa się ocenę dokonywaną w preparatach z rozgniecionymi grudkami,
- obecność nieprawidłowych skupisk komórkowych oraz innych niż megakariocyty, nietypowych dużych komórek; pod małym powiększeniem mikroskopu szczególnie dobrze widoczne są skupiska komórek przerzutowych, osteoblastów, pojedyncze osteoklasty czy też komórki spichrzeniowe.

W dalszym etapie badania należy wyznaczyć wzór odsetkowy komórek hematopoezy. W tym celu należy posłużyć się obiektywami o większym powiększeniu, tj. 40–100×, w zależności od liczby krwinek jądrzastych widocznych w polu widzenia. W celu jak największego zminimalizowania wpływu rozcieńczenia krwią różnicowanie w preparatach wykonanych techniką „klasyczną” przeprowadzać należy w obszarach położonych bezpośrednio przy grudkach szpikowych. W przypadku preparatów wykonanych techniką rozgniatania grudek oceniać należy właściwie rozsmarowane komórki znajdujące się w bezpośrednim sąsiedztwie grudek szpikowych, unikając jednocześnie tych obszarów, które zawierają zbyt dużą liczbę zniszczonych komórek. Przykładowe miejsca, w których należy dokonywać różnicowania krwinek, pokazano na rycinie 2. We wzorze odsetkowym należy uwzględniać następujące rodzaje prawidłowo obecnych w szpiku komórek: erytroblasty (proerytroblasty, erytroblasty zasadochłonne, wielobarwliwe i kwasochłonne), mieloblasty, promielocyty obojętnochłonne, mielocyty obojętnochłonne, metamielocyty obojętnochłonne, neutrocyty pałeczkowate oraz segmentowane, eozynofile, bazofile, promonocyty, monocyty, limfoblasty, limfocyty, limfocyty atypowe (komórki limfoidalne), plazmocyty, limfoplazmocyty, mastocyty. We wzorze odsetkowym nie należy uwzględniać: makrofagów, osteoblastów, osteoklastów, promegakariocytów i megakariocytów, limfocytów zlokalizowanych w obrębie grudek chłonnych, innych komórek podścieliska szpiku, komórek uszkodzonych ani przerzutowych. Uzyskany wzór odsetkowy należy odnieść do odpowiednich zakresów prawidłowych dostępnych w literaturze [8–10]. Obszary, w których komórki są zliczane, w miarę możliwości powinny być wypełnione rozmieszczonymi równomiernie i nieuszkodzonymi komórkami, o czytelnej strukturze wewnętrznej. Zliczanie należy prowadzić w różnych obszarach pochodzących z co najmniej 2 preparatów. Liczba komórek, na podstawie których wyliczany jest wzór odsetkowy, powinna wynosić przynajmniej ok. 500 (przy rozpoznawaniu choroby nowotworowej hematopoezy). Jeśli wynik zliczania



Ryc. 2 – Obrazy mikroskopowe rozmazów szpiku przygotowane różnymi metodami, fotografowane pod powiększeniem 100 ×, z zaznaczonym czerwonym prostokątem obszarem widocznym obok pod powiększeniem 400 ×. Obszar ten jest najbardziej odpowiedni do oceny ilościowej i jakościowej komórek szpiku. a) metoda „klasyczna”; b) metoda rozgniatacia grudek na szkiełku podstawowym; c) metoda rozgniatacia grudek na szkiełku nakrywkowym

Fig. 2 – Microscopic images marrow smears prepared by different methods, magnification 100 ×, red rectangle – 400 ×. This area is the most suitable for the quantitative and qualitative evaluation of marrow cells. a) “classic”, b) crushing of the spicules on glass slides, c) crushing of the spicules on coverslip

w zakresie określonej populacji komórek jest bliski zdefiniowanej wartości progowej, liczba zliczonych komórek powinna być większa – należy podać ją na wyniku [1].

Po dokonaniu różnicowania należy ocenić obecność i ew. nasilenie zmian dysplastycznych w 200 komórkach erytropoezy i granulopoezy, oraz w 30 megakariocytach (tam, gdzie jest to możliwe) [11]. Dysplazję wyraża się odsetkiem komórek dysplastycznych w danym szeregu. Dodatkowo należy podać, które z objawów dysplazji są obecne.

Odnotować należy fakt zwiększenia ilości mastocytów, odchylenia w ich wyglądzie i tworzenie przez nie skupisk, a także zwiększenie ilości makrofagów oraz to, czy zawierają sfagocytowane krwinki.

Jeśli wykonywane było barwienie na wolne żelazo, w preparacie barwionym metodą Perlisa ocenić należy pod małym powiększeniem obecność złogów w makrofagach (zawartych w dużej liczbie w grudkach szpikowych). Złogi te określa się jako prawidłowe, zmniejszone (do całkowitego braku) lub zwiększone (nieznacznie lub znacznie). Pod dużym powiększeniem (1000×) bada się obecność syderoblastów, kwalifikując je do określonego typu (I–III) i wyrażając ich liczbę jako odsetek spośród wszystkich komórek erytropoezy [12].

Jeśli wykonywane były dodatkowe barwienia cytochemiczne, należy je ocenić, podając odsetek komórek zawierający barwny produkt reakcji względem wszystkich komórek jądrzastych lub komórek blastycznych, w zależności od rodzaju reakcji. Dodatkowo, tam gdzie to właściwe, podać należy informację o rodzaju reakcji (np. dyfuzyjna, ziarnista, zlokalizowana ogniskowo) i stopniu jej nasilenia.

---

## Raport z badania

Wyniki dokonanej oceny należy zawrzeć w formie raportu, który powinien zawierać następujące elementy:

- dane identyfikacyjne laboratorium,
- dane identyfikacyjne pacjenta oraz rozpoznanie kliniczne/problem kliniczny/powód zlecenia badania,
- dane identyfikacyjne materiału (data pobrania i numer badania),
- nazwa jednostki i nazwisko lekarza kierującego oraz pobierającego materiał,
- opis najistotniejszych zmian ilościowych i jakościowych w badaniu morfologicznym krwi obwodowej,
- informacje na temat obecności/braku grudek w materiale i komórkowości,
- skład odsetkowy komórek hematopoezy wraz z liczbą zróżnicowanych krwinek, stosunek komórek szeregu szpikowego (suma granulocytów i monocytów) do erytropoezy,
- opis jakościowy erytropoezy (w tym procentowy udział megaloblastycznego toru odnowy), granulopoezy, układu chłonnego i megakariopoezy, z uwzględnieniem obecności i ew. nasilenia dysplazji,
- opis ew. komórek atypowych i/lub skupisk komórkowych oraz ew. obecność grudek chłonnych,
- opis barwień dodatkowych,
- wnioski,

- data opracowania raportu, podpis i pieczęć osoby opracowującej i zatwierdzającej raport.

Wniosek winien zawierać krótkie podsumowanie objawów morfologicznych zaobserwowanych we krwi i w szpiku. Objawy te należy odnieść do dostępnych danych klinicznych i parametrów laboratoryjnych i na ich podstawie zaproponować najbardziej prawdopodobne diagnozy (zgodne z klasyfikacją WHO, jeśli dotyczy), o ile to było celem badania. Przedstawić należy inne stany/jednostki chorobowe, które wymagają uwzględnienia w różnicowaniu. Należy zaproponować dalsze badania potwierdzające podane rozpoznanie lub pomocne w diagnostyce różnicowej. Jeśli poza badaniem cytologicznym z jednego aspiratu szpiku wykonywano inne analizy (np. immunofenotypyzacja, FISH, biologia molekularna), korzystne byłoby, aby wyniki tych analiz skonfrontować ze sobą i w miarę możliwości opracować jeden wspólny raport. W przypadkach, w których badanie szpiku jest wykonywane po raz kolejny, celowe jest odniesienie się do wcześniejszych ocen [1].

---

## Czas wykonania badania

Preparaty szpiku należy wykonywać w jak najkrótszym czasie od pobrania materiału, nie później niż 2 godziny. Procedury związane z barwieniem i przygotowaniem do oceny mikroskopowej należy przeprowadzić w czasie do 6 godzin od pobrania. Raport z oceny szpiku standardowo powinien być dostępny dla lekarza zlecającego po 2 dniach roboczych od pobrania. W stanach pilnych wstępny wynik badania powinien być przekazany w czasie do 3 godzin od pobrania, natomiast wynik w formie końcowej powinien być dostępny w czasie 24 godzin po pobraniu materiału.

---

## Okres przechowywania preparatów i dokumentacji badań

Czas przechowywania preparatów szpiku oraz dokumentacji badania powinien być zgodny z ogólnymi wymogami dotyczącymi archiwizacji dokumentacji medycznej, tj. co najmniej 30 lat.

---

## Wkład autorów/Authors' contributions

Według kolejności.

---

## Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje.

---

## Finansowanie/Financial support

Nie występuje.

---

## Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

---

## PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

- [1] Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *International Journal of Laboratory Haematology* 2008;30:349–364.
- [2] Bain BJ, Clark DM, Wilkins B. *Bone Marrow Pathology*, 4th ed., Oxford: Blackwell Science; 2010.
- [3] Greer JP, Foerster J, Lukens JN, et al. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 12th ed., Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2004.
- [4] International Council for Standardization in Haematology. Recommendations for ethylenediaminetetraacetic acid anticoagulation of blood for blood cell counting and sizing. *American Journal of Clinical Pathology* 1993;100:371–372.
- [5] Bain BJ, Bates I, Laffan MA, et al. *Dacie and Lewis Practical Haematology*, 11th ed., Elsevier Churchill Livingstone; 2012.
- [6] Woronzoff-Dashkoff KK. The Wright-Giemsa stain. Secrets revealed. *Clinics in Laboratory Medicine* 2003;22:15–23.
- [7] International Council for Standardization in Haematology. ICSH reference method for staining of blood and bone marrow films by azure B and eosin Y (Romanowsky stain). *Br J Haematol* 1984;57:707–710.
- [8] Lewandowski K, Kowalik MM, Pawlaczyk R, et al. Microscopic examination of bone marrow aspirate in healthy adults – comparison of two techniques of slide preparation. *International Journal of Laboratory Hematology* 2012;34:254–261.
- [9] Rosse C, Kraemer MJ, Dillon TL, et al. Bone marrow cell populations of normal infants: the predominance of lymphocytes. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1977;89:1225–1240.
- [10] Glaser K, Limarzi LR, Proncher HG. Cellular composition of the bone marrow in normal infants and children. *Pediatrics* 1950;6:789–824.
- [11] Brunning RD, Bennett JM, Matutes E, et al. Refractory cytopenia with multilineage dysplasia. W: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC; 2008. p. 98–99.
- [12] Cartwright GE, Deiss A. Sideroblasts, siderocytes and sideroblastic anemia. *New England Journal of Medicine* 1975;292:185–193.